

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALCINDO PASTORE

**MANEJO DE INOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* EM SOJA ASSOCIADO AO
TRATAMENTO FITOSSANITÁRIO DAS SEMENTES**

PALOTINA

2016

ALCINDO PASTORE

**MANEJO DE INOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* EM SOJA ASSOCIADO AO
TRATAMENTO FITOSSANITÁRIO DAS SEMENTES**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Tecnologias de Bioprodutos Agroindustriais, no Curso de Pós-Graduação em Tecnologias de Bioprodutos Agroindustriais, Setor Palotina, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Paiola Albrecht

PALOTINA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P293 Pastore , Alcindo
Manejo de inoculação com *bradyrhizobium*
em soja associado ao tratamento fitossanitário
das sementes / Alcindo Pastore. – Palotina, 2016
42f.

Orientador: Leandro Paiola Albrecht.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal
do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-Graduação
em Tecnologias de Bioprodutos Agroindustriais.

1. *Bradyrhizobium*. 2. Fatores bióticos e abióticos.
3. *Glycine max*. I. Albrecht, Leandro Paiola. II.
Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 631.8

Ficha catalográfica elaborada por Aparecida Pereira dos Santos– CRB 9/1736



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor PALOTINA
Programa de Pós-Graduação TECNOLOGIAS DE BIOPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em TECNOLOGIAS DE BIOPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **ALCINDO PASTORE** intitulada: **MANEJO DE INOCULAÇÃO COM BRADYRHIZOBIUM EM SOJA ASSOCIADO AO TRATAMENTO FITOSSANITÁRIO DAS SEMENTES**, após terem inquirido o aluno e realizado e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação.


PALOTINA, 20 de Dezembro de 2016.


LEANDRO PAIOLA ALBRECHT

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


ALFREDO JUNIOR PAIOLA ALBRECHT

Avaliador Externo (UFPR)


LAERCIO AUGUSTO PIVETTA

Avaliador Externo (UFPR)

Dedico esse trabalho a meu pai, Rogério, a minha mãe Zulmira,
a minha querida esposa Neivair,
por estar sempre presente quando preciso,
tanto afetiva quanto profissionalmente,
a meu filho Thomas que enche de alegria os meus dias.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, proteção e manutenção da bênção.

Ao meu orientador, professor Dr. Leandro Paiola Albrecht, pela orientação, apoio, incentivos e confiança.

Ao professor Dr. Robsom Fernando Missio, pelas contribuições e sugestões de co-orientação no trabalho.

Ao colegiado e coordenação do curso de pós-graduação em Tecnologias de Bioprodutos Agroindustriais, do Setor Palotina, da Universidade Federal do Paraná, na pessoa da sua coordenadora Professora Dra. Ivonete Rossi Bautitz.

Aos funcionários do Departamento de Agronomia, da Universidade Federal do Paraná-Setor Palotina, por estarem sempre prontos a cooperar.

Ao Sistema Meteorológico do Paraná- SIMEPAR, pelo fornecimento dos dados meteorológicos oficiais da estação meteorológica de Palotina.

Aos Integrantes do grupo de pesquisa SUPRA, pela colaboração na coleta, processamento de amostras e quantificação de resultados.

Aos colegas acadêmicos do curso de Agronomia da UFPR, Vinicius Gabriel, Mateus Mattiuzzi, Cristian Zanfrilli, Aderlan Bottcher, Gabriela Gayoso, Marcelo Cassol, Tamara Mundt, Felipe Vagner e José Eduardo Mendes.

O tempo é muito lento para os que esperam, muito rápido para os que têm medo,
muito longo para os que lamentam, muito curto para os que festejam.
Mas, para os que amam, o tempo é eterno.

Henry Van Dyke.

RESUMO

A inoculação e o tratamento fitossanitário de sementes de soja são técnicas de baixo custo utilizadas para a manutenção da produtividade e melhoria na qualidade de grãos. Entre as formas utilizadas para inoculação estão a via sementes e a via sulco de semeadura. O objetivo deste trabalho foi avaliar entre as formas de inoculação, associadas ou não ao tratamento fitossanitário de sementes, qual oferece o melhor resultado no comportamento da soja sob cultivo orgânico e convencional. Para isso foi implantado experimento composto de dois ensaios a campo utilizando cultivares de soja M-5947 IPRO® em sistema de plantio direto com manejo convencional e NK-412113® (não transgênica) em sistema com revolvimento de solo e manejo orgânico. Nas sementes foram realizados tratamentos fitossanitários, formas de inoculação e tratamentos padrão sem inoculação e sem tratamento nas sementes. O experimento foi instalado na safra 2015/16, em área localizada no município de Palotina-PR. O solo foi caracterizado como Latossolo Vermelho eutrófico tipo 3. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, distribuído em um fatorial 2x4, com cinco repetições e totalizando 40 parcelas por ensaio. A forma de inoculação em sulco foi realizada com equipamento automatizado acoplado à semeadora, devidamente regulado para o volume de calda de 50 L ha⁻¹. A concentração do inoculante foi de 5,84 x 10⁹ UFC por mL⁻¹ da bactéria *Bradyrhizobium japonicum* e *elkanii*, contendo as estirpes *Semia* 5019 e 5079. Avaliados stand de plantas, número de vagens, altura de inserção da primeira vagem, altura final de plantas, número de nódulos, massa seca de nódulos, clorofila total, massa de cem sementes e produtividade. Todos os resultados significativos observados resultaram da interação dos fatores, no entanto, não foram expressivos nas condições experimentais. Fatores abióticos negativos foram identificados no período inicial e reprodutivo da cultura, desfavorecendo a técnica da inoculação. Bactérias nativas, consequentemente mais adaptadas a condições adversas do meio, foram mais competitivas, oferecendo fixação semelhante aos tratamentos, causando nivelamento da produtividade final.

Palavras-chave: *Glycine max*. *Bradyrhizobium*. Formas de aplicação. Fatores bióticos e abióticos.

ABSTRACT

Inoculation and phytosanitary treatment of soybean seeds are low-cost techniques used to maintain productivity and improve grain quality. Among the forms used for inoculation there are seeds and sowing groove. The objective of this work was to evaluate among the forms of inoculation, associated or not to the phytosanitary treatment of seeds, which offers the best result in behavior of soybean under organic and conventional cultivation. For this, an experiment was carried out composed of two field trials using soybean cultivars M-5947 IPRO® in no-tillage system with conventional management and NK-412113® non-transgenic, in system with soil tillage and organic management. In the seeds, phytosanitary treatments, inoculation forms and standard treatments were performed without inoculation and without seeds treatment. The experiment was installed in the 2015/16 crop, in an area located in the city of Palotina-PR. The soil was characterized as type 3 eutrophic Red Latosol. The design was a randomized block, distributed in a 2x4 factorial, with five replications e totaling 40 plots per trial. The furrow inoculation method was performed with automated equipment coupled to the seeder, adjusted for the volume of 50 L ha⁻¹. The concentration of the Inoculant was 5.84 x 10⁹ CFU per mL⁻¹ of the *Bradyrhizobium japonicum* and *elkanii*, bacterium containing the strains *Semia* 5019 and 5079. Evaluated plant stand, number of pods, height of insertion of the first pod, final height of plants, number of Nodules, dry mass of nodules, total chlorophyll, mass of 100 seeds and productivity. All the significant results observed resulted from the interaction of the factors, however, were not expressive in experimental conditions. Negative abiotic factors were identified in the initial and reproductive period of the culture, disfavoring the inoculation technique. Native bacteria, consequently more adapted to the adverse conditions of the medium, were more competitive, offering similar fixation to the treatments, causing leveling of the final productivity.

Key-words: *Glycine max*. *Bradyrhizobium*. Forms of application. Biotic and abiotic factors.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- VALORES HISTÓRICOS DE TEMPERATURA MÉDIA DO AR E PRECIPITAÇÃO PARA O PERÍODO DA CULTURA DA SOJA PRIMEIRA ÉPOCA NA REGIÃO DE PALOTINA- PR.....	23
FIGURA 2- PRECIPITAÇÃO EM MM E TEMPERATURA EM °C, HISTÓRICA, OBSERVADA E DIFERENÇA DO PERÍODO EXPERIMENTAL DA CULTURA.....	35
FIGURA 3- COMPARAÇÃO DOS VALORES OBSERVADOS E HISTÓRICOS DE TEMPERATURA E PRECIPITAÇÃO POR FASE DA CULTURA POR FASE DA CULTURA PARA O EXPERIMENTO.....	35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO DA ÁREA EXPERIMENTAL REALIZADA ANTES DA REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO DE CAMPO	22
TABELA 2 – MÉDIA GERAL DE PLANTAS POR METRO LINEAR PARA OS DOIS NÍVEIS DO FATOR A, NO ESTÁDIO VEGETATIVO (V3), PARA OS DOIS ENSAIOS DE CAMPO	28
TABELA 3 – RESULTADO DOS TRATAMENTOS SOBRE AS VARIÁVEIS, COM A CULTIVAR M-5947 IPRO E MANEJO CONVENCIONAL EM SISTEMA EM SPD	29
TABELA 4 – RESULTADO DOS TRATAMENTOS SOBRE AS VARIÁVEIS. COM A CULTIVAR NK- 412113 CONVENCIONAL, COM MANEJO ORGÂNICO SOB SISTEMA DE PLANTIO CONVENCIONAL	31

LISTA DE SIGLAS

ANPII	-	Associação Nacional de Produtores Importadores de Inoculantes.
CTS	-	Com Tratamento de Semente.
CONAB	-	Companhia Nacional de Abastecimento.
DAE	-	Dias Após Emergência.
DBC	-	Delineamento Inteiramente Casualizado.
EMBRAPA	-	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
FBN	-	Fixação Biológica de Nitrogênio.
ICF	-	Índice de Clorofila Falker.
ICF	-	Índice de Clorofila Foliar.
INO SE	-	Inoculante na Semente.
INO SE SU	-	Inoculante na Semente e no Sulco.
INO SU	-	Inoculante no Sulco.
MS	-	Massa Seca.
N	-	Nitrogênio.
NOD	-	Nódulos.
NPK	-	Nitrogênio, Fósforo, Potássio.
OGM	-	Organismos Geneticamente Modificados.
PC	-	Plantio Convencional.
PD	-	Plantio Direto.
S INO	-	Sem Inoculante.
STS	-	Sem Tratamento de Semente.
SIMEPAR	-	Sistema Meteorológico do Paraná.
SPD	-	Sistema de Plantio Direto.
UFC	-	Unidade Formadora de Colônias.

LISTA DE SÍMBOLOS

- ® - Marca registrada.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO TEÓRICA	16
2.1	BACTÉRIAS E MICROBIOTA DO SOLO	16
2.2	NODULAÇÃO E FBN	16
2.3	INOCULAÇÃO, UTILIZAÇÃO DE N MINERAL E MICRONUTRIENTES	17
2.4	REINOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO	17
2.5	TRATAMENTOS DE SEMENTES E SUAS FORMAS DE APLICAÇÃO	19
2.5.1	Aplicação em sulco	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	LOCAL DO EXPERIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO	22
3.2	CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA	22
3.3	COMPOSIÇÃO DO EXPERIMENTO	23
3.3.1	Inoculante utilizado	23
3.3.2	Ensaio 1	24
3.3.3	Ensaio 2	24
3.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, TRATAMENTOS, AVALIAÇÕES E ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5	CONCLUSÕES	38
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) representa o grão mais importante produzido em cultivo extensivo no Brasil, considerado atualmente como maior fonte de proteína utilizada na formulação de ração animal e de outros produtos importantes à composição de outros alimentos. Segundo a EMBRAPA (2016), o Brasil apresenta-se como o segundo maior produtor mundial do grão, perdendo apenas para os Estados Unidos. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2016), são cultivados no Brasil aproximadamente 33,7 milhões de hectares de soja.

Para que a produção de soja apresente alta produtividade em lavouras extensivas é necessário o adequado suprimento de nitrogênio, porém seu uso por meio de fertilização mineral é praticamente inviável devido ao alto custo de aquisição. Uma alternativa, visando minimizar custos é o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio, que são adicionadas ao sistema por meio de inoculantes, visando suprir parte da necessidade da cultura com o nutriente extraído do ar.

A utilização de fertilização mineral é comum, as aplicações por vezes são utilizadas de forma intensa, dependendo da fertilidade do solo e da produtividade esperada para a cultura. Os inoculantes contendo bactérias auxiliam de forma importante à cultura da soja e ao agricultor, proporcionando incrementos no fornecimento de nitrogênio que conseqüentemente melhoram o teor de proteína nos grãos, produtividade e aumentos de matéria seca nos restos culturais, auxiliando na cobertura natural do solo como a melhoria nas quantidades de matéria orgânica.

Os estudos com fixação biológica de nitrogênio (N) em leguminosas iniciaram nos anos de 1950, desde então, a utilização de inoculantes com rizóbios gerou para a cultura da soja uma economia em fertilizantes nitrogenados de aproximadamente U\$ 3 bilhões/ano. Avanços no melhoramento genético da planta de soja e nas pesquisas em microbiologia do solo tornaram possíveis substituir a adubação nitrogenada pelo uso de inoculantes com estirpes de rizóbio (*Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii*). Isso proporcionou o suprimento de quase todo nitrogênio demandado pela cultura (BELTRAME, 2010).

Além do incremento de produtividade, outras vantagens têm surgido para facilitar e alavancar a técnica da inoculação da soja com *Bradyrhizobium* spp. na cultura da soja e feijão, como a forma de inocular em sulco de semeadura. Esta surgiu como uma estratégia e tornou capaz a compatibilidade do processo de inoculação associado ao tratamento de sementes com fungicidas, inseticidas e nematicidas (HUNGRIA et al., 2007). Essa prática é recomendada tecnicamente também para correção de outros problemas no solo, como em locais onde o solo apresenta populações maiores de nematoides, pragas de fase inicial e fungos, que são transmitidos pelas sementes ou atacam a soja na fase inicial (EMBRAPA, 2008). O uso de tratamentos de semente tradicional, com produtos químicos como inseticidas, fungicidas, nematicidas e, por vezes ainda micronutrientes a fim de melhorar a nutrição nas fases iniciais da cultura, geralmente trazem prejuízos à população bacteriana. Um dos motivos de tal prejuízo é o aumento da toxidez e alterações do pH, prejudiciais ao número de células viáveis inoculadas por semente, que segundo a literatura deve ser em torno de 1,2 milhão de células por semente. Esta redução de células viáveis tem possibilidade de ser corrigida com a utilização da inoculação ou reinoculação via sulco de semeadura (CAMPO; HUNGRIA, 2000).

O processo de inoculação tradicional consiste em aplicar a bactéria nas sementes, desta forma, logo após a germinação a bactéria penetra na raiz, coloniza e forma nódulos, fixando nitrogênio atmosférico. A utilização da inoculação via sulco permite que o inoculante seja injetado por um sistema de aplicação acoplado à semeadora, no mesmo momento e operação da semeadura. Os tratamentos de sementes são distribuídos em camadas sobre a semente e o inoculante é distribuído no solo, diretamente no sulco de semeadura. A inoculação via sulco é também uma alternativa interessante de manejo nos solos em locais onde ocorre a necessidade de utilização de altas doses de inoculantes, o que é positivo para o aumento da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (LOBO e NOGUEIRA, 2014).

Ganhos substanciais de produtividade da soja são obtidos com reinoculação em áreas de soja, é o que tem demonstrado pesquisadores da Embrapa soja na última década. Dessa forma, a opção por utilizar rizóbio é hoje, no Brasil, uma prática consagrada que apresenta ganhos de produtividade com relação custo-benefício viável

para esta cultura, que representa uma das principais commodities brasileiras (HUNGRIA et al., 2007).

O tratamento industrial das sementes com máquinas modernas utiliza tecnologia avançada e baixo risco de intoxicação ao produtor, associando polímeros e protetores bacterianos a calda de tratamento das sementes. Essa tecnologia oferece junção do processo de tratamento químico com a inoculação e outros produtos de composição antifúngica e biológica. Entretanto, ainda não foram realizados estudos de longo prazo, ou que tenham apresentado resultados comprovados em condições gerais, para que possam garantir por completo a sobrevivência do número de bactérias viáveis, necessárias à boa colonização radicular.

A forma menos prejudicial na utilização de vários princípios ativos ou produtos comerciais é na aplicação em separado, principalmente produtos químicos dos biológicos. O sistema de inoculação via sulco oferece esta possibilidade com a vantagem de que pode ser realizado de forma simultânea à operação de semeadura, assim evita o contato direto e prejudicial entre a fração biológica e as formulações químicas, bastando para isso o uso de equipamento adequado.

Considerando as distintas realidades vigentes no campo e as possibilidades tecnológicas atuais, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o comportamento da soja em diferentes sistemas de cultivo, orgânico e convencional, submetida ao manejo de inoculação.

2 REVISÃO TEÓRICA

2.1 BACTÉRIAS

Segundo Stanford et al. (2005) a população bacteriana no solo é estimada entre 10^8 e 10^9 unidades formadoras de colônias por grama de solo (ufc/g), variando bastante com o solo, com o manejo e com o método usado na avaliação. As bactérias constituem o grupo mais numeroso, na grande maioria dos casos o de maior importância, pois promovem doenças, tanto em plantas como em animais, além de serem as grandes responsáveis pelas inúmeras transformações relacionadas à fertilidade dos solos, entre elas: decomposição da matéria orgânica, mineralização de nutrientes, nitrificação e denitrificação, fixação biológica do nitrogênio atmosférico (dinitrogênio), formação de compostos gasosos como metano, gás carbônico e gás sulfídrico, redução e oxidação de minerais, recuperação de solos em geral (STANFORD et al., 2005).

Entre muitas, as mais encontradas na microbiologia dos solos tropicais são as dos gêneros *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Derxia*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Micrococcus*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rhizobium* e *Thiobacillus* (STANFORD et al., 2005).

2.2 NODULAÇÃO E FBN.

A FBN (fixação biológica de nitrogênio) tem como base a ocorrência dos nódulos, estes aparecem logo após a germinação, pela presença do rizóbio no solo ou aderido à semente, em três etapas que são a pré-infecção; infecção e desenvolvimento nodular; e ativação e funcionamento do nódulo (CASSINI; FRANCO, 2006).

Algumas estirpes são conhecidas e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo assim recomendadas para inoculação de leguminosas, como feijoeiro no Brasil, dentre estas a *Semia* 4077; *Semia* 4080 e *Semia* 4088 (BARBOSA et al., 2012). Assim como para o feijoeiro, ocorre com a cultura da soja, para esta também ocorre a formação dos nódulos, por bactérias específicas, que são introduzidas via semente, no período do pré-plantio por meio de inoculação (BARBOZA et al., 2012).

2.3 INOCULAÇÃO, UTILIZAÇÃO DE N MINERAL E MICRONUTRIENTES.

De acordo com Hungria et al. (2001), o elemento requerido em maior quantidade pela soja é o nitrogênio (N), descreve que dos 80 kg ha⁻¹ utilizados para a produção de cada tonelada, sendo que aproximadamente 40% são armazenados nos restos culturais e 60% são exportados nos grãos.

Produtividades semelhantes foram observadas entre a inoculação e a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N. Comparações de produtividade obtidas com a inoculação acrescida de 20 kg ha⁻¹ de N em cobertura em relação à aplicação de 160 kg ha⁻¹ de N em cobertura não apresentaram diferenças significativas (PELEGRIN et al., 2009).

Segundo Câmara (2014) quando a soja é cultivada em sistema de plantio direto na palha, pode haver a necessidade de suprimento de nitrogênio mineral, a fim de auxiliar a decomposição da acentuada quantidade de palha que se transforma em matéria orgânica, assim parte do N mineral do solo é imobilizada pelos microorganismos decompositores. Preconizando que nessas situações podem ser aplicadas pequenas quantidades de N a fim melhorar o equilíbrio da relação carbono/nitrogênio ideal para uma decomposição com menor consumo do N presente no solo, causando a falta do nutriente nos estágios iniciais da cultura da soja.

Para Marschner (1986) a falta de alguns micronutrientes afeta diretamente a FBN, como é o caso do molibdênio, porque faz parte da enzima nitrogenase e ainda atua na redutase do nitrato, para que possa ser aproveitada pela planta em seu metabolismo, visando cumprir os processos biológicos necessários à boa produtividade.

Com visão e apelo Ambiental, tem sido promovido com sucesso o uso de inoculantes, e a técnica da inoculação via sementes tem tomado espaço e força entre as recomendações técnicas destinadas a áreas de cultivo intensivo de uma cultura leguminosa, como é o caso da soja, ou sucessão de culturas, como é o caso da sequência de cultivo soja/milho safrinha, que é comumente observado na região oeste e norte do Paraná. Assim, tem se mostrado eficiente em muitos casos a reinoculação.

2.4 CONDIÇÕES DE APLICAÇÃO DA INOCULAÇÃO EM CAMPO.

De acordo com Hungria et al. (2007), FBN é dependente da sobrevivência do rizóbio, portanto temperaturas elevadas e estresse hídrico podem ser fatores

ambientais limitantes ao bom processo de fixação, principalmente quando a semeadura ocorre em períodos quentes e solo seco, ou ainda quando o solo atinge temperaturas maiores de 40° C na camada superior de 5cm.

A semeadura por volta dos 25° C é ideal, segundo a Embrapa (2006), com essa temperatura ocorre emergência rápida e uniforme da cultura, sendo tolerada a semeadura entre 20 a 30 °C, acima desse patamar ocorre a diminuição do número inoculado de bactérias, prejudicando a formação de nódulos e impedindo uma germinação uniforme da cultura.

Os conhecidos “Veranicos” comuns aos modelos climáticos da região tropical de baixa altitude, como é o caso do oeste do Paraná são eventos que dificultam a obtenção de máximas produtividades, pois impactam na nodulação, fixação biológica e dependendo da fase em que ocorrem em relação à cultura, atingem a mesma no momento em que ocorre a maior necessidade hídrica, tornando a cultura incapaz de superar o estresse momentâneo em períodos como florescimento e enchimento de grãos.

No Brasil, a economia ao considerar-se apenas a substituição parcial de 50% do fertilizante nitrogenado utilizado nas culturas de cereais, que para milho utiliza 55 kg de N ha⁻¹ em 14,1 milhões de ha⁻¹, para trigo, cerca de 35 kg de N ha⁻¹ em 2,4 milhões de ha⁻¹, estas culturas cultivadas e totalmente supridas por meio de bactérias fixadoras inoculadas ou naturais do solo, como no caso do *Azospirillum brasilense*, resultaria em uma economia estimada em 1,2 bilhão de dólares por ano. Portanto, o uso de inoculantes a base de *Azospirillum* deve ajudar todo o sistema produtivo a alcançar o objetivo de reduzir o uso de fertilizantes químicos também nas gramíneas (ZILLI et al., 2010).

Na região Oeste do estado do Paraná, são cultivadas geralmente duas safras por ano agrícola, isto é, grande parte da área cultivada permite uma segunda safra, geralmente de trigo ou milho, após o cultivo de soja, mais comum na safra de verão.

O *Azospirillum* coloniza as raízes de forma geral e apesar de seu emprego inicial tenha sido em estudos com gramíneas, não é uma bactéria específica, por não apresentar preferência por plantas específicas. Resultados pontuais do trabalho dessas bactérias têm sido observados na estimulação da densidade e comprimento de pelos

radiculares em leguminosas, isso aumenta a taxa de enraizamento lateral, proporciona assim maior área total de superfície radicular onde a concentração do inóculo é alta. Resultados de maior nodulação em leguminosas após inoculação com *Azospirillum* têm sido atribuídos a uma maior capacidade de movimentação no solo do que rizóbio, forte atração pela área microaerofílica da rizosfera das leguminosas em relação a outras plantas. Bactérias do Gênero *Azospirillum* ocupam primeiramente as raízes de leguminosas e promovem um pré-condicionamento, antes da colonização de *Rhizobium* que proporciona maior nodulação final (RODELAS ET AL., 1999).

As inoculações mistas têm uma maior taxa de sucesso em plantas pelo fato de melhorar o equilíbrio metabólico, a nutrição de forma geral pela adsorção de NPK, S e outros micronutrientes, que aumenta consequentemente a sua produtividade. A inoculação mista de *Azospirillum* com *Rhizobium* aumenta a estimulação e a função dos nódulos, número total e peso dos nódulos, diferenciação das células epidérmicas nos pelos radiculares, produtividade de grãos e área total da superfície radicular (BASHAN; BASHAN, 2005).

2.5 TRATAMENTOS DE SEMENTES E SUAS FORMAS DE APLICAÇÃO

No sistema de plantio Convencional as pragas que atacam a cultura da soja tanto no sistema radicular como na parte aérea são combatidas via tratamento de sementes, com uso de inseticidas, a fim de não permitir seus danos às sementes e plantas juvenis (MARTINS et al., 2009). O tratamento inicial de sementes com produtos fitossanitários visando à proteção das plântulas contra fungos e outros patógenos, nesse sistema, pode significar até 22% do custo com aquisição de sementes no Brasil (MALONE et al., 2007).

Segundo Cruz; Silveira et al.; Fessel et al. (1996; 2001; 2003 citado por DAN, 2011), apesar do tratamento de sementes se constituir em uma operação rotineira, pouco se conhece sobre a influência dos inseticidas na germinação e no vigor das sementes de soja. Alguns resultados de pesquisa têm mostrado que certos produtos quando aplicados nas sementes de algumas culturas podem em determinadas situações, ocasionar redução na germinação e na sobrevivência das plântulas bem como afetar o ambiente e organismos micorrízicos associados à planta.

Tratamento fúngico e químico nas sementes são práticas comuns na prevenção de danos causados por fungos, no entanto é prejudicial à *Bradyrhizobium*. Segundo Andrés et. al. (1998), ocorre que este microrganismo sofre toxidez com o defensivo e pode deixar a cultura sem nodulação, dependendo do local de cultivo e do número de bactérias nativas presentes. No campo e em avaliações laboratoriais foram verificadas reduções de até 98% na população de *Bradyrhizobium* quando as sementes foram tratadas com fungicidas aos quais não são tolerantes, portanto sua população é sensivelmente diminuída (HUNGRIA et al., 2007).

No sistema Orgânico de cultivo de soja tem se observado poucas alternativas para uso em tratamentos de sementes contra pragas. Já para o controle de fungos e alguns tipos de nematoides foram testados alguns extratos de plantas e óleos essenciais com efeitos promissores, porém estes biocompostos geralmente atuam somente como repelentes. O uso de *Trichoderma viride*, apresentou resultados de diminuição populacional de nematoides nas raízes, quando utilizado em tratamento de sementes de soja, mas não apresentou controle eficaz na população dos mesmos no solo (BORTOLINI et al., 2014).

Em cultivos Orgânicos com restrição de uso de produtos químicos, há a necessidade de se conhecer as espécies de nematoides ou fungos a serem controladas, pois o manejo está em função das características de cada espécie, parte da planta em que causa maiores danos, bem como ciclo de vida dos indivíduos (INOMOTO, 2009).

Segundo BORTOLINI et al., (2014), mais de 75% dos trabalhos neste meio destacam os fungos predadores e endoparasitas, como bons agentes de biocontrole da população de nematoides, principalmente *Trichoderma sp.*, por possuir capacidade de degradação de quitina.

2.5.1 Aplicação em sulco

Descrito por Câmara (2014), o equipamento de pulverização de sulco é uma alternativa prática e eficaz contra a morte de *Bradyrhizobium* ocasionada pelo tratamento de sementes, pois evita o contato direto da bactéria com o produto pulverizado para o controle de patógenos.

A soja é cultivada sob diversos sistemas de plantio e formas de manejo para as quais são recomendadas muitas cultivares existentes no mercado de sementes, das quais cada uma se adapta melhor a um ou outro sistema de cultivo, região e altitude, conforme o local onde a cultura será implantada. Algumas técnicas podem ser mais eficientes em uma região do que em outra, para isso as técnicas necessitam de testes e estudos mais localizados e específicos.

A finalidade deste estudo e experimentos é auxiliar os produtores na escolha dos melhores cultivares e técnicas utilizadas na produção, entre elas estão o tratamento das sementes e a inoculação em diversas formas de utilização a campo, a fim de incrementar a produtividade em cada região.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

O experimento de campo foi realizado em Palotina e compreendeu o período de setembro de 2015 a janeiro de 2016, na propriedade rural denominada Sítio Tarumã, situada nas coordenadas 24°17'16.00" S e 53°53'56,8" O, com altitude de 278 m. Em solo classificado como Latossolo Vermelho eutrófico tipo 3, cujas características químicas foram determinadas por meio de análises de solo prévias para cada ensaio (TABELA 1).

TABELA 1- ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO DA ÁREA EXPERIMENTAL REALIZADA ANTES DA REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO DE CAMPO

	pH (CaCl ₂)	M.O. (g dm ⁻³)	P resina (mg dm ⁻³)	H+ AL	K	Ca mmol c dm ⁻³)	Mg	SB	CTC	V (%)
Ensaio 1	5,6	31,99	50,02	3,69	0,61	6,62	2,24	9,47	13,16	71,96
Ensaio 2	5,1	26,94	59,87	4,96	0,39	5,02	1,99	7,40	12,36	70,06

Fonte: O autor (2016).

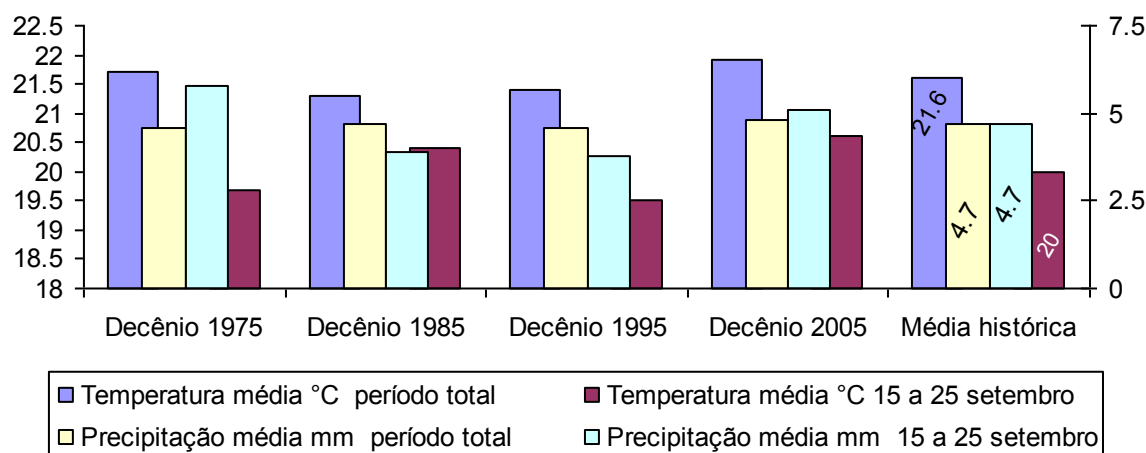
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA

O clima da região de Palotina é classificado como Cfa - subtropical úmido mesotérmico, segundo a classificação de Köppen, com verões quentes e invernos secos, frios ou amenos, associados a geadas frequentes que ocorrem geralmente no período entre final de maio a início de setembro. Com temperatura média anual de 22° e a pluviosidade média anual de 1500 mm.

A cultura da soja na região de Palotina tem sua implantação a partir de meados de setembro, em cumprimento ao vazio sanitário aplicado no estado do Paraná. Visando a não presença de plantas de soja verdes a campo, por um período mínimo pré-determinado, a fim de minimizar o número de possíveis esporos remanescentes do cultivo anterior. Os dados de temperatura média em °C e precipitação em mm dos últimos quatro decênios, bem como a média dos últimos 40 anos, (GRÁFICO 1),

referentes à primeira época de semeadura da cultura da soja na região de Palotina, oeste do Paraná.

GRÁFICO 1- VALORES HISTÓRICOS DE TEMPERATURA MÉDIA DO AR E PRECIPITAÇÃO PARA O PERÍODO DA CULTURA DA SOJA EM PRIMEIRA ÉPOCA NA REGIÃO DE PALOTINA- PR



FONTE: Dados SIMEPAR (2016).

Elaboração: O autor (2016).

3.3 COMPOSIÇÃO DO EXPERIMENTO

Foram implantados dois ensaios, cada um com: cultivar, sistema de plantio e manejo distintos. Para atender a necessidade da inoculação em sulco foi utilizado para os ensaios um sistema mecânico de aplicação em sulco, acoplado a semeadora. Em comparação com o sistema tradicional de inoculação via semente e interação com o tratamento fitossanitário padrão utilizado, em cada sistema de cultivo, na região oeste do Paraná.

3.3.1 Inoculante utilizado

O inoculante utilizado foi de formulação líquida comercial Masterfix[®] L Soja, contendo as estirpes *Semia* 5019 (*Bradyrhizobium elkanii*) e *Semia* 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*) com concentração bacteriana de $5,84 \times 10^9$ UFC (unidades formadoras de colônia) por mL⁻¹.

3.3.2 Ensaio 1

Para este experimento foi utilizada a cultivar de soja M-5947 IPRO, em sistema SPD - Sistema de Plantio Direto, sobre palha de milho segunda safra de 2015. Nesse ensaio, o manejo do sistema e cultura foram conduzidos de forma convencional, com o uso de todas as tecnologias disponíveis para esta forma de manejo. Para o controle de invasoras e dessecações de pré-plantio foram utilizados os produtos e doses: Glyphosate ($3,0 \text{ L ha}^{-1}$); 2,4-D ($1,0 \text{ L ha}^{-1}$); Clorimuron- ethyl (50 g ha^{-1}); Dicloreto de Paraquat ($2,0 \text{ L ha}^{-1}$); Óleo vegetal ($0,4 \text{ L ha}^{-1}$) e Sulfentrazone ($0,4 \text{ L ha}^{-1}$).

A adubação de base utilizada foi composta de fertilizante granulado NPK no grão com formulação 08-40-00 + 09 (S) denominado Macroessentials[®], na quantidade de 125 kg ha^{-1} . A aplicação foi localizada junto à linha de semeadura, por meio de semeadora apropriada para o cultivo de soja, da marca Baldan[®] PP solo- 4500 directa, configuração 10/10, dotada de sistema de distribuição de fertilizante mecânico denominado rosca sem fim, com helicoidais passos 1 polegada, devidamente calibrados para distribuir a quantidade proposta. A incorporação se deu por meio de sistema de facão sulcador, a uma profundidade de incorporação regulada em aproximadamente 0,12 m, de forma contínua com a incorporação de um bloco por faixa de distribuição.

A semeadura foi realizada em 15 de setembro de 2015, um dia após a fertilização. Com a população média de plantas recomendada para esta, cultivar na região do ensaio pela empresa detentora da tecnologia da cultivar (Monsanto Company, 2015), que recomenda 14 sementes por metro linear, buscando uma população superior a $240.000 \text{ plantas ha}^{-1}$ após a emergência. A profundidade de semeadura foi de 3 a 5 cm, com espaçamento entre fileiras de 0,45 m.

Foi realizada ainda uma cobertura de fertilizante, a todas as parcelas com cloreto de potássio (KCL), composto por K_2O (%) = 60, aos quinze dias após a semeadura da soja na quantidade de 100 kg ha^{-1} . Os demais manejos e operações foram efetuados conforme recomendação adotadas na região.

3.3.3 Ensaio 2

Nesse ensaio foi utilizada cultivar de soja não OGM, denominada NK- 412113, comercializada pela Syngenta[®]. Esse segundo ensaio foi implantado em talhão da

mesma propriedade, com manejo orgânico de produção, superior a 10 anos. O sistema de plantio adotado para o segundo ensaio foi o PC- Plantio Convencional, onde o preparo de solo foi composto de uma gradagem pesada do solo dez dias antes da semeadura, a uma profundidade de 0,18 m, que incorporou parcialmente ao solo a matéria seca deixada pela cultura anterior, o qual foi o milho safrinha 2015. Sete dias após e três dias antes da semeadura, efetuou-se a segunda operação, que foi uma gradagem leve do solo a uma profundidade aproximada de 0,10 m, com a finalidade de nivelamento do solo e melhoria da qualidade da semeadura.

Para a adubação de base foi utilizado fertilizante Fosfato Natural reativo de Arad, composto de: 33,00% de P_2O_5 Total, 37% de Ca, 1,0% de S, 0,12% Mg, 0,10% de K_2O , 0,56% Si, 26 ppm Cu, 400 ppm Zn, 42 ppm Mo, 33 ppm Mn, na quantidade de 400 kg ha⁻¹. O mesmo procedimento, equipamento, forma de aplicação e profundidades utilizadas no primeiro ensaio, foram também utilizados para o segundo ensaio. Efetuou-se uma aplicação de cobertura para o suprimento de potássio, com o produto Sulfato de Potássio, na concentração de 50% de K_2O e 18% de S na dose de 125 kg ha⁻¹, dez dias após a emergência da cultura da soja.

O controle de plantas daninhas foi realizado com capina manual e o manejo de pragas e doenças do ensaio foi efetuado com produtos, técnicas de condução e forma de manejo igual ao restante da lavoura comercial, em que o ensaio esteve inserido. Para o manejo de pragas e doenças foram utilizados produtos permitidos para manejo no sistema orgânico de produção, entre eles baculovírus, associado a produto do grupo dos tetranortriterpenóides a base de *Azadiractin* A/B concentração 12 g L⁻¹, na dose de 100 mL ha⁻¹.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, TRATAMENTOS, AVALIAÇÕES E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC) para os dois ensaios, com arranjo fatorial 2 x 4, ou seja, sem tratamento de sementes (STS) e com tratamento fitossanitário nas sementes (CTS) e quatro formas de manejo na inoculação: sem inoculação (S. INO.), com inoculação nas semente (INO. SE), inoculação no sulco (INO. SU.), inoculação em semente e sulco (INO. SE. SU.). Com

cinco repetições e totalizando 40 parcelas por ensaio. As parcelas foram constituídas de seis linhas úteis com comprimento de 3,703 m e espaçamento de 0,45 m na entrelinha de semeadura, totalizando 10 m² de área útil cada parcela, quatro linhas utilizadas como bordadura entre blocos e 2,0 m entre parcelas.

Para as aplicações via sulco utilizou-se sistema de aplicação semiautomatizado acoplado à semeadora, o qual efetua inoculação no sulco, na mesma operação da semeadura. A calda é injetada em sulco na forma de um microjato formado por bicos injetores localizados e posicionados na parte posterior do disco incorporador de semente ao solo. O volume de calda utilizada neste experimento foi de 50 L ha⁻¹, com pressão de 1 atm. A operação de inoculação das sementes para os dois ensaios foi realizada uma hora antes da semeadura e as sementes foram acondicionadas em sacos de papel, a sombra, até o momento da adição ao reservatório da semeadora.

As variáveis avaliadas foram: estande de plantas no estágio V3, número de nódulos, massa seca de nódulos coletados em R2 (Fehr & Caviness, 1977) clorofila total, altura final de plantas, altura de inserção de primeira vagem, número de vagens por planta massa de cem sementes e produtividade por hectare.

O estande de plantas foi quantificado em estágio V3, a fim de quantificar a existência de população mínima presente e, necessária ao bom desenvolvimento e competitividade igualitária entre as parcelas.

A coleta das plantas nos ensaios de campo para a contagem do número de nódulos (N NOD) e massa seca de nódulos (MS NOD) foi realizada aos 48 DAE, em estágio (R2). Foram abertas trincheiras com 30 cm de profundidade nas laterais das fileiras para a retirada de dez plantas com raízes, em que foram separadas as raízes da parte aérea. As raízes foram levadas ao laboratório, lavadas e destacados os nódulos sobre uma peneira fina, após, os nódulos foram acondicionados em sacos de papel identificados e submetidos à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C, até massa constante. Em seguida, os sacos com os nódulos foram retirados da estufa, resfriados em dessecador e pesados em balança analítica, com precisão de 0,0001 g⁻¹ para determinação da massa seca dos nódulos. Após foram abertos e foi efetuada a contagem dos nódulos.

No mesmo momento em que foram coletadas as plantas para a contagem de nódulos, foi efetuada a leitura de clorofila total, por meio de equipamento da marca Clorofilog[®], modelo CFL-1030. O mesmo faz a medição da clorofila de forma direta por meio de fotodiodos emissores de luz em três comprimentos de onda, próximos aos picos dos teores de cada tipo de clorofila, que após transpassar a folha, é recebida por um sensor que faz a leitura da radiação transmitida, a partir desta, o aparelho fornece um índice denominado Índice de Clorofila Falker[®] (ICF), que é proporcional a Absorbâncias das clorofilas (FALKER, 2008).

A altura de plantas e inserção da primeira vagem foi mensurada uma semana depois de atingido o estágio R6, em dez plantas com auxílio de uma trena milimetrada a partir da superfície do solo até a extremidade da haste principal. A altura de inserção da primeira vagem a partir da superfície do solo até o ponto de inserção da primeira vagem.

Para quantificação da produtividade, no estágio fenológico R9, as plantas foram colhidas manualmente e, em seguida, as vagens foram debulhadas em trilhadora própria para experimentos e limpas com o auxílio de peneiras. Foi quantificada umidade das sementes de cada repetição, e acondicionadas em sacos de papel, pesadas e calculadas as produtividades em kg ha⁻¹. Em seguida, foi determinada a massa de cem grãos, por meio de média simples, a partir dos valores da massa em gramas obtida de oito subamostras, para cada repetição dos tratamentos de campo. Para o cálculo de produtividade e da massa de cem sementes, o grau de umidade foi corrigido para 13% em base úmida.

Os dados obtidos foram tabelados, submetidos à análise de variância e realizados os desdobramentos necessários. As médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para população de plantas no estágio V3, para os dois ensaios de campo, não apresentaram diferenças estatísticas (TABELA 2).

TABELA 2- MÉDIA GERAL DE PLANTAS POR METRO LINEAR PARA OS DOIS NÍVEIS DO FATOR A, NO ESTÁDIO VEGETATIVO (V3), PARA OS DOIS ENSAIOS DE CAMPO.

Variável	Fator A	N° de Plantas m	
		Ensaio 1	Ensaio 2
Estande (V3)	STS	13,47 a	11,61 a
	CTS	13,51 a	11,54 a
	(DMS)	0,63	0,70

FONTE: O autor (2016).

* Médias seguidas de mesmas letras na coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Siglas: V3: Vegetativo 3; STS.: Sem tratamento de sementes; CTS.: Com tratamento de sementes; DMS: Diferença mínima significativa.

A média de plantas por metro presente no estágio vegetativo (V3), representou mais de 80% de plantas viáveis, em relação ao número de sementes depositadas a campo. Portanto, é fato que mesmo com um período quente e sem precipitação após a semeadura, e com o retorno das precipitações e condições de germinação, esta ocorreu de forma satisfatória nas parcelas. Assim, os tratamentos fitossanitários e a inoculação não afetaram o potencial germinativo e a emergência das plântulas. A população esteve de acordo com o planejamento experimental proposto, que presumia uma população acima de 11,25 plantas por metro ou 240.000 plantas ha⁻¹. Esta foi a população inicial recomendada pelos detentores e fornecedores das sementes das cultivares, utilizadas para a região.

Para o ensaio 1, ao qual utilizou-se a cultivar M-5947 IPRO, as variáveis n° de NOD, MS de NOD, MS de 100 sementes, ICF total e altura final de plantas, não apresentaram diferenças estatísticas entre os valores dos tratamentos em nenhum dos fatores avaliados, tanto isolados quanto na interação entre os mesmos. Apresentaram diferenciais ($p \leq 0,05$) as variáveis, n° de vagens por planta, inserção da primeira vagem (TABELA 3).

TABELA 3: RESULTADO DOS TRATAMENTOS SOBRE AS VARIÁVEIS, COM A CULTIVAR M-5947 IPRO E MANEJO CONVENCIONAL EM SISTEMA EM SPD

Variável	Cultivar M-5947 IPRO	Fator B				MÉDIA (A)
	Fator A	S INO	INO SE	INO SU	INO SU/SE	
N° vagens Planta	STS	31,68 B	35,96AB	44,44 A	40,44AB	38,13
CV (%) 13,97	CTS	32,88	37,08	39,92	39,24	37,28
	Média (B)	32,28	36,52	42,18	39,84	37,70
Altura 1° vagem (cm)	STS	7,08	6,20	7,10 a	6,68	6,76
CV (%) 13,16	CTS	6,76	6,70	5,96 b	6,70	6,53
	Média (B)	6,92	6,45	6,53	6,69	6,64
N° de NOD planta	STS	28,60	31,40	26,40	29,20	28,90
CV (%) 36,45	CTS	22,00	28,80	23,20	26,80	25,20
	Média (B)	25,30	30,10	25,30	28,00	27,05
MS de NOD planta (g)	STS	0,183	0,136	0,154	0,180	0,163
CV (%) 30,93	CTS	0,129	0,155	0,135	0,153	0,143
	Média (B)	0,156	0,145	0,145	0,166	0,153
MS de 100 sementes	STS	15,06	14,54	14,16	15,08	14,71
CV (%) 7,57	CTS	14,82	15,04	14,56	14,44	14,71
	Média (B)	14,94	14,79	14,36	14,76	14,71
ICF Total	STS	51,02	51,02	49,30	48,32	49,91
CV (%) 7,22	CTS	50,24	50,14	48,94	51,36	50,17
	Média (B)	50,63	50,58	49,12	49,84	50,04
Altura final planta (cm)	STS	55,56	61,32	60,28	60,96	59,53
CV (%) 7,90	CTS	58,60	62,72	58,88	57,36	59,39
	Média (B)	57,08	62,02	59,58	59,16	59,46
Produtividade (kg ha ⁻¹)	STS	3.725	3.202	3.148	3.538	3.403
CV (%) 15,31	CTS	3.425	3.517	3.274	3.612	3.457
	Média (B)	3.575	3.359	3.211	3.575	3.430

FONTE: O autor (2016).

* Médias não seguidas de letras, ou seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Siglas: CV: Coeficiente de variação; ICF: índice de clorofila Falker; MS: Massa seca; NOD: Nódulos; STS.: Sem tratamento de sementes; CTS.: Com tratamento de semente; S. INO.: Sem inoculação; INO. SE.: Inoculação na semente; INO. SU.: Inoculação no sulco; INO.SE.SU.: inoculação na semente e no sulco.

A variável número de vagens por planta apresentou diferença na interação entre sem tratamento de sementes (STS) e a forma de inoculação em sulco (INO SU). Com média de 44,4 vagens por planta, seguido de INO SU+ INO SE e INO SE, iguais estatisticamente, com contagem de 40,4 e 35,9 vagens respectivamente, superiores ao tratamento sem inoculação (S INO) com 31,6 vagens por planta.

Para a inserção da 1° Vagem, foi observada a maior altura de vagens, com 7,1cm na inoculação em sulco e sementes não tratadas, do que onde foi utilizado sementes tratadas (CTS), com 5,9 cm.

Os resultados obtidos nesta variável corroboram com os encontrados por Hungria (2011), que também observou resultados negativos quando associados aos tratamentos de sementes e inoculantes. Os resultados dos trabalhos apresentaram diferenças no número e na massa seca de nódulos obtida, quando as sementes são tratadas com agrotóxicos incompatíveis com *Bradyrhizobium*, pela diminuição do número de células viáveis nas sementes. Segundo a pesquisadora, em mais de uma década de pesquisa na Embrapa com inoculação, os resultados mostram que alguns produtos usados para tratamento de sementes podem matar até 98% dos rizóbios em um curto período de tempo. Assim, com menor número de células viáveis, a fixação perde eficiência e consequentemente diminuição nos componentes de produção, que diretamente podem impactar os resultados de produtividade da cultura.

Campo et al. (2010), após pesquisa visando minimizar esses problemas, indicam a inoculação com alta concentração de células, no máximo até 24 h antes da semeadura. Ou inoculação no sulco de semeadura, evitando o contato direto com os produtos químicos, com dose de inoculante pelo menos duas vezes maior que a recomendação normal, que é de $1,2 \times 10^6$ células por semente.

Em áreas de primeiro cultivo Zilli et al. (2010) não encontraram diferenciais significativos em número de nódulos por planta, quando da utilização de inoculantes via semente e via sulco, com 21 a 28 nódulos, respectivamente. Comparando-se os resultados encontrados neste trabalho, podem-se observar valores muito próximos com contagens médias de 27 nódulos por planta, porém essa contagem não se diferiu do número de nódulos observado no tratamento padrão, que apresentou 28 nódulos por planta.

No ensaio 2, para as variáveis número de nódulos, massa seca de nódulos, ICF Total e Altura de Inserção da primeira vagem, não foram encontradas diferenças estatísticas nos valores entre os tratamentos, em nenhum dos fatores (TABELA 4).

TABELA 4: RESULTADO DOS TRATAMENTOS SOBRE AS VARIÁVEIS, COM A CULTIVAR NK-412113 CONVENCIONAL, COM MANEJO ORGÂNICO SOB SISTEMA DE PLANTIO CONVENCIONAL

Variável	Cultivar NK- 412113	Fator B				
	Fator A	S INO	INO SE	INO SU	INO SU/SE	Média (A)
Altura final planta (cm)	S TS	59,16 AB	68,08 Aa	54,36 B	57,08 AB	57,67
CV (%) 11,38	C TS	61,44	57,96 b	59,56	61,48	60,11
	Média (B)	60,30	63,02	56,96	59,28	59,89
Massa 100 Sementes (g)	S TS	13,74 b	14,94 a	13,44	13,72	13,96
CV (%) 7,82	C TS	15,50 Aa	13,26 Bb	13,86 AB	13,94 AB	14,14
	Média (B)	14,62	14,10	14,65	13,83	14,05
N° NOD planta	S TS	26,00	26,00	29,60	25,60	26,80
CV (%) 31,85	C TS	31,60	24,20	26,00	23,00	26,20
	Média (B)	28,80	25,10	27,80	24,30	26,50
MS de NOD planta (g)	S TS	0,185	0,117	0,154	0,188	0,161
CV (%) 38,53	C TS	0,177	0,149	0,156	0,170	0,163
	Média (B)	0,181	0,133	0,155	0,179	0,162
ICF Total	S TS	50,46	51,96	50,66	50,78	50,96
CV (%) 5,08	C TS	51,26	52,30	50,70	49,84	51,02
	Média (B)	50,86	52,13	50,68	50,31	50,99
Altura 1° vagem (cm)	S TS	6,24	6,54	6,30	6,82	6,47
CV (%) 9,53	C TS	6,38	6,14	6,12	6,30	6,23
	Média (B)	6,31	6,34	6,21	6,56	6,35
N° Vagens planta	S TS	40,16	44,56	42,24	40,88	41,96
CV (%) 11,96	C TS	42,96	44,60	40,32	40,76	41,41
	Média (B)	41,56	43,08	41,28	40,82	41,68
Produtividade ha (kg ha ⁻¹)	S TS	3.499	3.506	3.666	3.520	3.548
CV (%) 7,34	C TS	3.559	3.551	3.493	3.717	3.580
	Média (B)	3.529	3.528	3.580	3.618	3.564

FONTE: O autor (2016).

* Médias não seguidas de letras e seguidas de mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Siglas: CV: Coeficiente de variação; MS: Massa seca; NOD: Nódulos; ICF: Índice de clorofila; STS.: Sem tratamento de sementes; CTS.: Com tratamento de semente; S. INO.: Sem inoculação; INO. SE.: Inoculação na semente; INO. SU.: Inoculação no sulco; INO.SE.SU.:inoculação na semente e no sulco;

Segundo Smith (1992), são muitos os fatores que interagem para o estabelecimento da simbiose entre raízes de plantas de soja e bactérias de rizóbio, em condições de campo com fatores ambientais desfavoráveis é possível que a fixação eficiente não ocorra. Estas ausências de efeitos significativos no presente ensaio podem ter relação direta com as bactérias presentes ou nativas do solo do local cultivado, pois se o local de cultivo já contém certa população bacteriana nativa

estabelecida, quando os fatores ambientais não são favoráveis, estas populações estabelecidas possuem maior adaptabilidade e eficiência, tornando a fixação satisfatória a todos os tratamentos.

Outros como Deaker et al. (2004) descrevem que uma inoculação bem efetuada protege as células bacterianas, proporcionando a manutenção de grande quantidade de células viáveis. Assim, resultando em maior número de nódulos e sobrevivência de bactérias no solo em condições de semeadura normal, onde a emergência da cultura ocorre no prazo e condições normais esperadas.

Já Vieira Neto et al. (2008) que realizaram trabalho com inoculação e formas de aplicação em soja, descrevem relato de contagens médias de até 50 nódulos por planta, com inoculação líquida no sulco, onde a soja foi inoculada após vários anos de cultivo sem inoculação.

As variáveis que apresentaram diferenciais ($p \leq 0,05$) para este ensaio foram da altura final de planta cm^{-1} e Massa de 100 sementes g^{-1} . Para altura final de plantas, o melhor resultado foi de 68 cm, utilizando inoculação nas sementes não tratadas, a menor altura de plantas foi observada com inoculação via semente e sulco e sementes não tratadas. Para a massa de cem sementes, foi observada massa de 15,5 g por planta quando utilizadas sementes tratadas sem inoculação e, 13,74 g para sementes não tratadas. O contrário foi observado com inoculação em sementes, quantificadas 14,94 g para sementes não tratadas, contra 13,26 g para sementes tratadas. Para as formas de inoculação dentro de sementes tratadas, o melhor resultado foi apresentado pelo tratamento padrão com 15,50 g, seguido de inoculação em sulco e semente + sulco, estatisticamente iguais com 13,94 g e 13,86 g respectivamente. O menor resultado na massa de cem sementes foi para inoculação em sementes, com 13,26 g.

Os resultados obtidos com a inoculação, utilizando as formas propostas, segundo as dosagens e momentos de aplicação, tanto associados como isolados do tratamento químico de sementes, de forma geral não apresentaram incrementos significativos em produtividade. Apesar dos valores de alguns componentes de produção apresentarem números significativos, não foram suficientes para ofertar incrementos de produtividade.

A temperatura do solo, o pH, a salinidade, teor de água e oxigênio, toxinas e predadores também são descritos por Zhang et al. (1996) como potenciais razões de impacto ou benefício para a colonização e sobrevivência das bactérias *Bradyrhizobium*. Para Campo et al. (2009), que desenvolveram trabalhos com inoculação em soja, os resultados demonstraram que a nodulação em condições adversas foi reduzida em 73% em áreas sem população estabelecida em solo arenoso, 14% em áreas com população estabelecida, 33% em áreas sem população estabelecida, com solo do tipo argiloso.

Experimentos utilizando inoculação, em diversos trabalhos de campo, como os já citados na revisão deste trabalho com Hungria et al. (2001; 2007) mostram resultados satisfatórios, em certos momentos até expressivos e altamente viáveis em se tratando de produtividade. Considerando os baixos valores de investimento na aplicação da técnica da inoculação, citando o processo de fixação biológica como ferramenta de grande importância para a manutenção e acréscimo da produtividade da soja.

É conhecido que o inoculante, por se tratar de um produto biológico, para atuar com bom desempenho, mesmo aplicado da forma correta, necessita de outros fatores para um bom e efetivo funcionamento. Ou seja, depende de vários condicionantes ao longo do processo, até o momento em que entra em contato com os exsudatos radiculares da planta de soja no solo (EMBRAPA, 2001).

Entre essas etapas, estão o transporte e acondicionamento do produto antes de chegar ao produtor ou experimentador, calagem e poder tampão do solo, fornecimento ou presença no solo de nutrientes como enxofre, cobalto e molibdênio e presença de níveis mínimos de fósforo. Além de certos cuidados com a mistura de outros produtos químicos na calda de inoculação e até condições abióticas relacionadas a variáveis como temperatura do ar e pluviometria, que alteram a umidade e temperatura do solo e que podem causar variações na população inicial bacteriana, modificando o desempenho da fixação biológica a ser ofertada pelas bactérias inoculadas.

Buscou-se então desvendar as causas pelos quais neste experimento de campo, com todos os procedimentos recomendados, não foi observado incremento de produtividade semelhante aos descritos na maioria dos trabalhos encontrados na literatura. Resultados em que os ganhos de produtividade alcançam valores próximos e até superiores a 10%, dependendo da região e safra experimental.

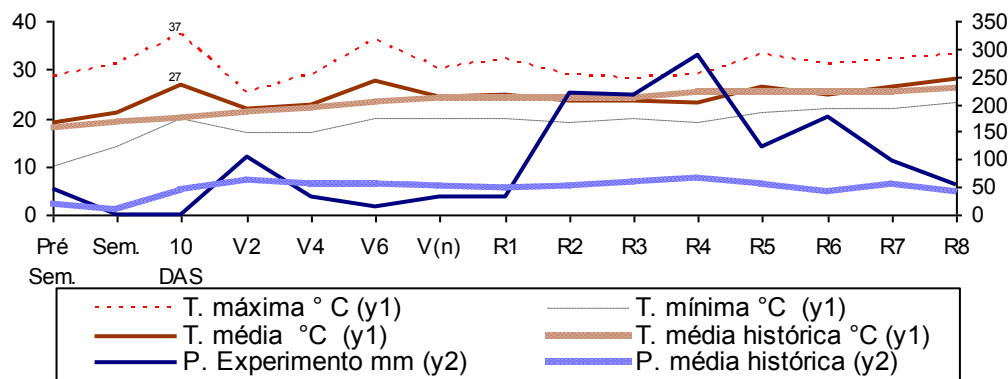
Um importante fator no desempenho da inoculação de bactérias no solo e semente é o ambiental, que embora seja previsível até certo ponto, em grande parte do ciclo das culturas está diretamente ligado as variáveis meteorológicas. Do momento da inoculação até que aconteça a simbiose entre a bactéria e a planta, bem como no período próximo posterior, em que ocorre a multiplicação, o ambiente é variável. Diferente em cada situação de plantio, que pode favorecer ou desfavorecer o bom desempenho da bactéria inoculada. Estas, portanto, são dependentes de condições favoráveis e susceptíveis quando ocorrem condições adversas.

Dentre os fatores elencados alguns foram descartados devido ao próprio formato e delineamento empregados na experimentação, restando apenas em evidência o fator abiótico, relacionado a variações meteorológicas em momentos importantes a boa inoculação e multiplicação inicial das bactérias inoculadas. Como o clima não pode ser controlado a campo, ensaios em nível de campo possuem um alto potencial de interferência, portanto elencado como principal razão dos resultados não observados sobre a variável produtividade.

A soma da precipitação total no período do experimento, safra 2015/16 chegou a 1.437 mm^{-1} , enquanto o valor histórico dos últimos 40 anos observado para o mesmo período é de 630 mm^{-1} . Portanto, quando dividido o volume de precipitação do período, por dia de ciclo observou-se valores superiores a 10,9 mm de chuva por dia, acima da média histórica de 4,7 mm ao dia. Os volumes de precipitação somaram mais que o dobro dos volumes normais no período reprodutivo, enquanto no inicial houve falta de precipitação e baixíssima umidade no solo, associado a altas temperaturas do ar.

Ocorreu ainda grande número de dias chuvosos e nublados, consequentemente, poucas horas por dia de luz solar, dificultando a fotossíntese plena, alta concentração de água no solo e anóxia por períodos consideráveis da fase reprodutiva da cultura. Se divididos por dia de ciclo, os valores de precipitação ocorridos na fase de florescimento até a maturação resultaram em 20 mm por dia. Esta fase da cultura é a que mais necessita de luz para a formação de fotoassimilados para o efetivo enchimento dos grãos produzidos. Os valores de precipitação em milímetros e temperaturas ocorridas em °C, bem como a diferença entre os valores observados e históricos para o período inicial e total do experimento estão no (GRÁFICO 2).

GRÁFICO 2- PRECIPITAÇÃO EM MM E TEMPERATURA EM °C, HISTÓRICA, OBSERVADA E DIFERENÇA DO PERÍODO EXPERIMENTAL



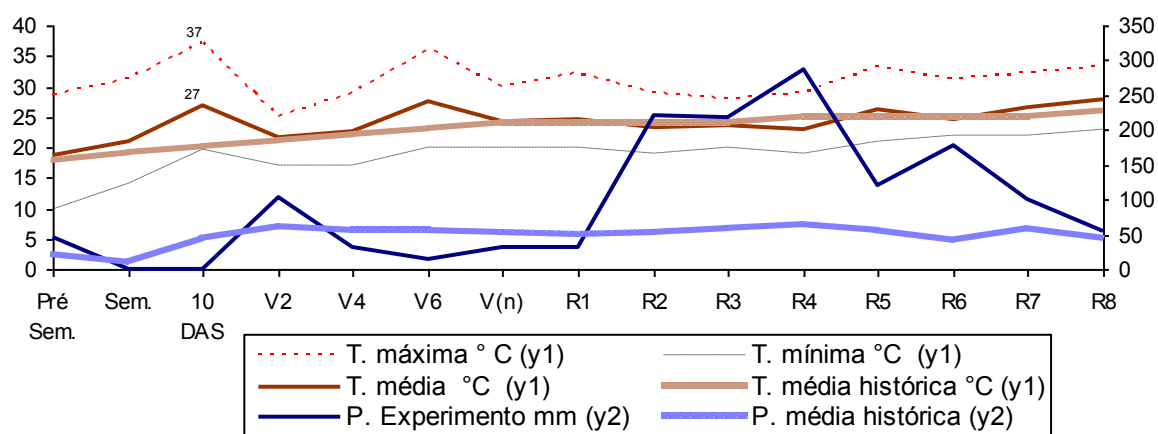
FONTE: Dados SIMEPAR (2016).

Elaboração: O autor (2016).

Siglas: T.: Temperatura; P.: Precipitação; Das: Dias após semeadura; y1: Eixo y 1; y2: Eixo y 2.

As variáveis meteorológicas foram precipitação e temperatura média, estas estão relacionadas com a alteração da umidade e temperatura do solo, que é o local de exposição das bactérias. Os períodos críticos foram 10 dias após a semeadura e a fase reprodutiva entre R1 e R7. Dados comparativos das variáveis climáticas (GRÁFICO 3).

GRÁFICO 3- COMPARAÇÃO DOS VALORES OBSERVADOS E HISTÓRICOS DE TEMPERATURA PRECIPITAÇÃO PARA AS FASES DA CULTURA



FONTE: Dados SIMEPAR (2016).

Elaboração: O autor (2016).

Siglas: DAS: Dias após a semeadura; Sem: Semeadura; V: Vegetativo; R: Reprodutivo
P.: Precipitação, (y2): Eixo- 2; T.: Temperatura, (y1): Eixo- 1.

Segundo Liddell (1997) e McDonald (1994) a escassez de água que ocorre normalmente nas regiões tropicais, afeta o ciclo de vida dos microrganismos de diversas maneiras. Solos secos inibem a germinação de microrganismos, que exigem diferentes condições ambientais para seu crescimento e multiplicação, visando infectar plantas. Um exemplo são os *Oomycetes*, que necessitam de alta umidade, enquanto outros como *Fusarium* preferem condições de baixa umidade para a infecção. Segundo estes autores a umidade excessiva e anoxia podem favorecer a dispersão do patógeno ou, em outras ocasiões, possibilitar o controle do mesmo, como exemplo, a inundação para a podridão do caule causada por *Macrophomina phaseolina*.

No período após a semeadura, não foi observada nenhuma precipitação, isso prejudicou o período inicial de infecção, pois a germinação das sementes foi prolongada em aproximadamente sete dias além do normal. Assim, com o atraso na emergência e falta de plantas e raízes, o desenvolvimento inicial bacteriano foi prejudicado consideravelmente, pois os primeiros dias após inoculação e semeadura são os de maior necessidade de boas condições no ambiente e solo, para o desenvolvimento inicial e sobrevivência das bactérias inoculadas. Os dados de precipitação histórica média foram agrupados e divididos em períodos de dez dias, esses volumes totais foram divididos por 10 visando caracterizar o volume de água em mm no solo por dia nos últimos 40 anos, deste, chegou-se a 4,7 mm de água proveniente da precipitação por dia, enquanto para a safra experimental o volume foi zero, pois não ocorreu nenhuma precipitação no período.

A umidade do solo é o fator importante no desenvolvimento microbiano, pois dela dependem todos os seres vivos. A falta de umidade ou excesso da mesma no solo é de fundamental importância no desenvolvimento das bactérias e outros microrganismos que sobrevivem junto aos sistemas radiculares. A presença de água no solo pode ser encontrada de duas formas: livre ou gravitacional, a adsorvida às partículas é utilizada pelos microrganismos (LIDDELL, 1997; MCDONALD, 1994; TSAI et al., 1992).

As temperaturas média e máxima média observadas no período foram muito superiores aos valores médios históricos, tornando as altas temperaturas, fatores desfavoráveis e prejudiciais ao bom desenvolvimento bacteriano, associados ao

período seco nos primeiros dias do ensaio. Os valores da temperatura média ficaram 7° C acima da média histórica no período inicial, com as médias máximas atingindo picos de 9,7°C acima dos valores históricos para o período, durante a grande maioria dos dias após a inoculação. Entre as dez maiores temperaturas de todo o período, cinco delas ocorreram dentro dos 10 primeiros dias após a semeadura, isto é, dentro do período crítico inicial de desenvolvimento bacteriano, condição microclimática necessária ao processo de inoculação de forma efetiva para uma boa fixação biológica. Em todos os dez dias após a semeadura observaram-se temperaturas máximas acima dos 35° C.

Entre os fatores do solo que interferem no desenvolvimento de uma simbiose eficiente, a temperatura, a acidez e a alcalinidade podem ser citadas como principais para as regiões tropicais. O número de nódulos formados é marcadamente afetado pela temperatura do solo, sendo que a temperatura ótima está normalmente entre 22 e 35°C (SIQUEIRA; FRANCO, 1988).

Observou-se pelos dados históricos dos últimos 40 anos, que somente em 1989, 2003 e 2004 ocorreram condições semelhantes de falta de precipitação no mesmo período utilizado para semeadura nesta safra, 15 a 25 de setembro, porém em nenhum dos três anos citados acima, houve tamanho aumento nas temperaturas médias e picos de temperaturas máximas que alcançaram 37°C por mais de cinco dias consecutivos. O que demonstra uma situação totalmente adversa à condição climática normal para esta época do ano safra. Certamente nos momentos de altas temperaturas do ar, a temperatura do solo também sofreu elevação substancial, que associada à falta de precipitação resultou em solo quente e seco na camada superior. Em que esteve localizada a semente inoculada e a inoculação realizada em sulco, isso prolongou o tempo de germinação e emergência das sementes, por mais de sete dias além do tempo normal, dificultando consideravelmente a sobrevivência e simbiose das bactérias inoculadas pelo fato de não haver plantas e raízes. Tal cenário causou a baixa eficiência de todas as formas de inoculação realizadas no experimento.

5 CONCLUSÕES

Todos os resultados significativos observados resultaram da interação dos fatores, no entanto, não foram expressivos nas condições experimentais.

Não foram observadas interferências ou alterações do tratamento fitossanitário utilizado nas sementes, tanto no que se refere à população de plantas em estágio V3 quanto sobre a inoculação.

Variáveis meteorológicas como temperatura e precipitação impactaram, desfavorecendo a técnica da inoculação.

Bactérias nativas presentes no solo, mais facilmente adaptadas, provavelmente ofertaram FBN a todos os tratamentos, causando substancial nivelamento de produtividade.

REFERÊNCIAS

- ANDRÉS J.A. et al. Survival and symbiotic properties of *Bradyrhizobium japonicum* in the presence of thiram: isolation of fungicide resistant strains. **Biology and Fertility of Soils**, v.26, n. 2, p.140-146, 1998.
- BARBOSA, F. et al. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central-brasileira**. Embrapa Arroz e Feijão. Santo Antônio De Goiás, Brasil, 2012.
- BASHAN, Y.; DE BASHAN, L. E. Plant growth-promoting. **Encyclopedia of soils in the environment**, v.1,n. 1, p. 108-112, 2005.
- BELTRAME, A. B. **Interação *Phytophthora nicotianae*-porta-enxerto de citros (tangerina Sunki e citrumelo Swingle): efeito no sistema radicular, aspectos fisiológicos e bioquímicos**. 137p., 2010. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- BORTOLINI, G. L. et al. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. Acesso, **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 08, p.818-830,2014.
- CÂMARA, G. M. S. Fixação biológica de nitrogênio em soja. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n. 147, p. 1-9, 2014.
- CAMPO, R. J. et al. In-furrow inoculation of soybean as alternative to fungicide and micronutrient seed treatment. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p.1103-1112, 2010.
- CAMPO, R. J. et al. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and Bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, ed. 1, p. 154-163, 2009.
- CAMPO, R.J. HUNGRIA, M. **Compatibilidade do uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Boletim de Pesquisa, 4), 31p., 2000 b.
- CASSINI, S. T. A.; FRANCO, M. C. **Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos**. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). Feijão. 2ª ed. Viçosa, MG: UFV, p. 255-301,2006.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira de grãos, nono levantamento**, julho 2016. Brasília: Conab, 2016.

DAN, L.G. de. M., et al. Tratamento de sementes com inseticida e a qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 45-51, 2011.

DEAKER, R. et al. Legume seed inoculation technology- a review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 8, p. 1275-1288, 2004.

EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias De Produção de Soja – região central do Brasil 2007**. (Sistemas de Produção 11) Londrina: Embrapa Soja. 225p.,2006.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A soja**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=22> Acesso em: 18 de agosto de 2016.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil**. (Sistema de Produção, 12). Londrina, Embrapa Soja, 280 p.,2008.

FALKER, Automação agrícola. **Manual do medidor eletrônico de teor clorofila** Clorofilog/ CFL 1030), 33 p., 2008.

FEHR, W.R. CAVINESS, C.E. Stage of soybean development. Iowa State University. **Special report 80**, March, p. 25-26, 1977.

FERREIRA, D. F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 66 p., 2000.

HUNGRIA, M. et al. **A importância do Processo de Fixação Biológica de Nitrogênio para a Cultura da Soja**: (Documento 283). Componente Essencial Para a Competitividade do Produto Brasileiro. Londrina, Embrapa Soja, 80 p., 2007.

HUNGRIA, M. **Inoculação com Azospirillum brasilense**: Inovação em Rendimento a Baixo Custo. Embrapa Soja, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Embrapa Soja; Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2001.

INOMOTO, M. M. Importância do manejo de *Pratylenchus brachyurus*, como manejar nematoides em soja. **Revista Plantio Direto**, ed. 108, p. 5-8, 2009.

LIDDELL, C.M. Abiotic factors and soilborne diseases. In: Hillocks, R.J. & Waller, J.M. (Eds.) **Soilborne Diseases of Tropical Crops**. Wallingford. CAB International, p. 365-376,1997.

LOBO, R. F. D.; NOGUEIRA, L. C. A. **Aplicação de inoculante via sulco na cultura de soja**. 4ª edição, maio 2014, disponível em: < <http://fait.revista.inf.br/site/c/agronomia.html>>. Acesso em 30 jan. 2015.

MACDONALD, J.D. The soil environment. In: Campbell, C.L. & Benson, D.M. (Eds.) **Epidemiology and Managment of Root Diseases**. Hidelberg. Springer-Verlag, p. 82-115, 1994.

MALONE, G. et al. Expressão diferencial de isoenzimas durante o processo de germinação de sementes de arroz em grandes profundidades de semeadura. **Revista Brasileira de sementes**, v. 29, n. 1, p. 61-67, 2007.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. **Academic Press**, 1986. 674 p.

MARTINS, G. M. et al. Inseticidas químicos e microbianos no controle da lagarta-do-cartucho na fase inicial da cultura do milho. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 170-174, 2009.

MONSANTO COMPANY. **Época de semeadura e população de plantas**: Disponível em <http://www.monsoy.com.br/nossasvariedades/?variedade=m5947-ipro>>. Acesso em 03 setembro de 2015.

PELEGRI, R. de, et al. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.

RODELAS, B. et al. Influence of Rhizobium/ Azotobacter and Rhizobium/ Azospirillum combined inoculation on mineral composition of faba bean (*Vicia faba* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 29, n. 2, p. 167-169, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotechnologia do solo**: fundamentos e perspectivas. Ministério da Educação e Cultura, 235 p., 1988.

SMITH, R. S. Legume inoculant formulation and application. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 6, p. 483-493, 1992.

STAMFORD, Newton P. et al. Propriedades físicas e químicas dos solos. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**, p. 59-92, 2005.

TSAL, S.M. et al. Efeito de fatores do solo. In: Cardoso, E.J.B.N., Tsai, S.M. & Neves, M.C.P. (Eds.) **Microbiologia do Solo**. Campinas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 59-67, 1992.

VIEIRA, S. A., et al. Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 2, p. 861-870, 2008.

ZHANG, F.; SMITH, D. L. Inoculation of soybean (*Glycine max*, L. Merr.) with genistein-preincubated *Bradyrhizobium japonicum* or genistein directly applied into soil increases soybean protein and dry matter yield under short season conditions. **Plant and soil**, v. 179, n. 2, p. 233-241, 1996.

ZILLI, J. É. et al. Notas Científicas Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 3, p. 335-338, 2010.